

Stichwörter: Chiralität • Memory-Effekt • Photochemie • Spinisomere

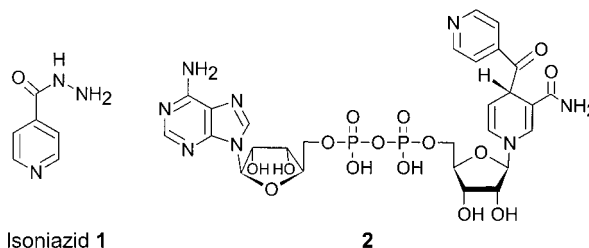
- [1] N. J. Turro, *Chem. Eng. News* **1967**, 45(20), 84.
- [2] G. Quinkert, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 851; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, 14, 790.
- [3] Siehe z.B.: a) D. A. Plattner, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 86; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 82; b) W. Adam, G. Fragale, D. Klapstein, W. M. Nau, J. Wirz, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 12578.
- [4] a) P. S. Engel, *Chem. Rev.* **1980**, 80, 137; b) C. P. Casey, R. A. Boggs, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6457; c) L. M. Stephenson, J. I. Braumann, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 1988; d) N. C. Yang, S. P. Elliott, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 7550; e) P. D. Bartlett, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 5317.
- [5] Das Photoeindringung **1** wurde durch S_N2-Substitution von *O*-Trifluormethansulfonyl-L-milchsäureethylester mit 4-Tosylamino-2-siloxybuttersäuremethylester und anschließende Dess-Martin-Periodinan-Oxidation hergestellt. Die Struktur ließ sich durch Elementaranalyse, NMR-Spektroskopie und vergleichende CD-Spektroskopie bestätigen.
- [6] Die Photocyclisierungen von **1** (2 mm in Benzol) wurden bei 20 °C mit einer 150-W-Hg-Hochdrucklampe (Heraeus, TQ-150, Pyrexglas, 3 mm Schichtdicke) durchgeführt. Die Bestrahlungsdauer hing von den Reaktionsbedingungen ab (Benzophenon: 20 min; Ar, O₂: etwa 2 h; Naphthalin, Isopren: etwa 10 h). Nach 80–90 % Umsatz wurden die Ausbeuten (Tabelle 1) direkt per analytischer HPLC bestimmt (Säule: Daicel Chiralcel OD, Laufmittel: Hexan/Isopropylalkohol, 3/1); die angegebenen Ausbeuten sind umsatzbezogen. Eine Verringerung der Bestrahlungszeiten haben niedrigere Ausbeuten, aber keine Änderung der Produktverhältnisse zur Folge. Die vier Produkte konnten durch präparative HPLC mit dem gleichen chiralen Säulenmaterial isoliert werden. Der Strukturbeweis basiert auf Kristallstrukturen der Derivate **3** und **4**, deren OH-Gruppen mit (+)- bzw. (–)-Camphorsäurechlorid verestert wurden. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-116102 und -116103 beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44)1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [7] Norrish-II-Photoeliminierung von α -Oxoestern, die in Gegenwart von Triplett-Quenchern über S₁-Spinisomere verlaufen, sind bekannt: S. Davidson, D. Goodwin, P. Fournier de Violet, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 2485.
- [8] Der Begriff Chiralitäts-Memory-Effekt wird hier gebraucht, wie er von Fuji und Kawabata vorgeschlagen wurde: K. Fuji, T. Kawabata, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 373. Die Chiralität eines sp³-Zentrums geht verloren, weil es in ein sp²-Zentrum überführt wird. Dennoch entsteht in einer enantioselektiven Reaktion aus diesem sp²-Zentrum ein sp³-hybridisiertes Chiralitätszentrum. Zur Diskussion des Memory-Effektes bei photochemischen Reaktionen siehe: a) A. G. Griesbeck, H. Mauder, S. Stadtmüller, *Acc. Chem. Res.* **1994**, 27, 70; b) J. C. Scaiano, *Tetrahedron* **1982**, 38, 819.
- [9] Möglicherweise beschleunigt O₂ den Triplett-Singulett-Übergang des Diradikals **2**. Damit würde die Lebensdauer des Triplettzustandes so stark verringert werden, daß der Anteil der Racemisierung der helikalen Triplett-Zwischenstufe sinkt: W. Adam, S. Grabowski, R. M. Wilson, *Chem. Ber.* **1989**, 122, 561; R. D. Small, J. C. Scaiano, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 4512.
- [10] Die Zerfalls-Quantenausbeute von **1** unter Triplett-Bedingungen (Toluol, N₂) wurde nach der Aktinometer-Methode zu 0.07 ± 0.02 bestimmt (*trans*-Azobenzol als Referenz).
- [11] Zu den Unterschieden angeregter Singulett- und Triplettzustände bei intermolekularen H-Abstraktionen siehe: W. M. Nau, F. L. Cozens, J. C. Scaiano, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2275.
- [12] Die Triplett- und Singulettenergien für einen zu **1** analogen Oxoester mit Glycin statt Alanin haben wir zu 68 bzw. 87 kcal mol^{–1} bestimmt. Die Triplett- und Singulettenergien von Naphthalin betragen 60 bzw. 92 kcal mol^{–1}, wobei die Lebensdauer des S₁-Zustandes mit 96 ns lang genug für eine diffusionskontrollierte Energieübertragung in 1M Naphthalinlösung sein sollte.

- [13] Die quantenchemischen Abschätzungen wurden nach der Unrestricted-Hartree-Fock-Methode mit dem 3-21G*-Basissatz berechnet (Gaussian 94). Für die Berechnung der Energie der Singulett-Diradikale wurde das Stichwort „guess = mix“ verwendet. Unsere Dichtefunktionaltheorie(DFT)-Rechnungen des Singulett-Diradikals **2** haben bislang noch nicht zur Konvergenz der Energien geführt. Zu DFT-Rechnungen von Singulett-Diradikalen siehe: E. R. Davidson, *Int. J. Quant. Chem.* **1998**, 69, 241; J. Gräfenstein, E. Kraka, D. Cremer, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 288, 593.
- [14] Die Struktur von **5** wurde durch MS und 600-MHz-NMR-Spektroskopie (zwei Diastereomere im Verhältnis von etwa 1:1) aufgeklärt.

Spontane Entstehung der bioaktiven Form des Tuberkulosemedikaments Isoniazid**

Martin Wilming und Kai Johnsson*

Tuberkulose ist weltweit eine der häufigsten Todesursachen und Isoniazid **1** seit 45 Jahren das wichtigste Medikament zur Bekämpfung ihres Erregers, *Mycobacterium tuberculosis*.^[1] Trotz der zentralen Bedeutung von Isoniazid ist dessen



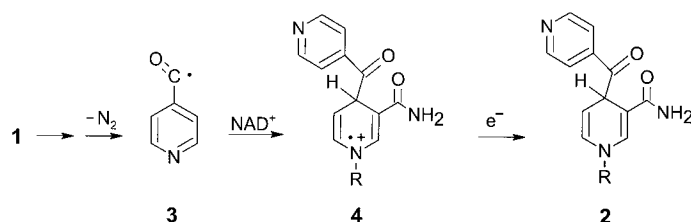
Wirkungsmechanismus noch ungenügend verstanden. Gegenwärtig wird angenommen, daß Isoniazid in *M. tuberculosis* durch die Katalase-Peroxidase KatG über das Isonicotinoylradikal **3** zur Säure oxidiert wird (siehe Schema 1).^[2] Aus der Metabolisierung des Medikaments resultiert eine Inhibierung der Synthese von Mycolsäuren, das sind langkettige Fettsäuren, die eine zentrale Rolle beim Aufbau der mycobakteriellen Zellwand spielen.^[3] Bisher sind zwei Enzyme der Fettsäure-Biosynthese bekannt, die durch Isoniazid inhibiert werden können: die Enoyl-Acyl-Carrier-Protein(ACP)-Reduktase InhA und die β -Ketoacyl-ACP-Synthase KasA.^[4] InhA katalysiert die Reduktion von ACP-gebundenen α,β -

[*] Dr. K. Johnsson,^[+] Dipl.-Chem. M. Wilming
Lehrstuhl für Organische Chemie I der Universität
Universitätsstraße 150, D-44780 Bochum

[+] Neue Adresse:
Institut de Chimie Organique
Université de Lausanne
CH-1015 Lausanne
Fax: (+41)21-692-3965
E-mail: kai.johnsson@ico.unil.ch

[**] Diese Arbeit wurde von der Europäischen Union (Projekt-Nr. BMH4-CT97-2277) gefördert. Wir danken G. von Kiedrowski für seine Unterstützung, M. Blüggel für die Aufnahme der LC/MS/MS-Spektren, S. Cole und J. Blanchard für Materialien und C. Lehmann für hilfreiche Diskussionen.

ungesättigten Fettsäuren durch NADH.^[5] Die Oxidation von Isoniazid in Gegenwart von InhA und dem Cofaktor NADH oder NAD⁺ führt zur Inhibierung von InhA.^[6] Durch die Aufklärung der Kristallstruktur des resultierenden InhA-Inhibitor-Komplexes konnte **2** als Inhibitor von InhA identifiziert werden.^[7] Es wurde vorgeschlagen, daß **2** ausschließlich im aktiven Zentrum von InhA gebildet wird, wobei als Mechanismus die Rekombination von **3** mit einem aus NADH gebildetem NAD-Radikal favorisiert wurde.^[7] Ein unserer Meinung nach plausibler Mechanismus zur Bildung von **2** wäre die direkte Addition von **3** an das elektrophile NAD⁺ mit anschließender Reduktion der Zwischenstufe **4** im Sinne einer Minisci-Reaktion (Schema 1).^[8] Die Geschwindigkeitskonstanten für die Addition von Acylradikalen an



Schema 1. R = ADP-Ribose.

protonierte Pyridine und andere elektronenarme Heterocyclen liegen im Bereich von $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$,^[8] so daß die selektive Bildung von **2** also durch die intrinsische Affinität von Acylradikalen für elektronenarme Heterocyclen wie NAD⁺ erklärt werden könnte. Zur Überprüfung unseres postulierten Reaktionsmechanismus haben wir deshalb zunächst untersucht, ob **2** über NADH oder NAD⁺ gebildet wird und ob in beiden Fällen tatsächlich der gleiche Inhibitor entsteht. Zu diesem Zweck wurde InhA mit Isoniazid, Peroxidase, Mn²⁺ sowie NADH oder NAD⁺ inkubiert und anschließend dialysiert.^[9] Die Analyse der dialysierten Reaktionsansätze durch matrixunterstützte Laserdesorptions-/ionisations-Massenspektrometrie (MALDI-MS) ermöglicht dann unter anderem den Nachweis von Molekülen, die von InhA gebunden werden. Sowohl bei den Inkubationen mit NADH als auch mit NAD⁺ konnte ein Molekül mit einer Masse von 770.1 Da, was der Molekülmasse von **2** entspricht, detektiert werden. Die HPLC-Analyse der Produktzusammensetzung von Reaktionsansätzen, wie sie für In-vitro-Inaktivierungsexperimente mit NADH typisch sind, ergab, daß neben der Oxidation von Isoniazid zu Isonicotinsäure auch eine Oxidation von NADH zu NAD⁺ stattfindet.^[11] So enthält ein Reaktionsgemisch aus 100 µM Isoniazid, 70 µM NADH, 2 µM KatG und 0.2 µM MnCl₂ bei pH 7.5 und 25 °C nach 10 min 18 µM Isonicotinsäure und 5.6 µM NAD⁺. **2** könnte also sowohl bei den Inkubationen mit NAD⁺ als auch mit NADH über NAD⁺ gebildet werden. Um zu untersuchen, ob **2** auch ohne InhA gebildet wird, wurde Isoniazid in Gegenwart von NAD⁺ oxidiert und die Reaktion per HPLC verfolgt (Abbildung 1a). Neben dem Peak für Isonicotinsäure treten mehrere Peaks (A–E) mit höherer Retentionszeit als der für NAD⁺ auf. Die Analyse durch MALDI und LC/ESI/MS/MS ergab, daß die Produkte B–E eine Molekülmasse von 770.1 Da aufweisen und dem MS/MS-Fragmentierungsmuster zufolge durch Modifikation von NAD⁺ am Nicotinamidring entstehen. Die Produkte B–E

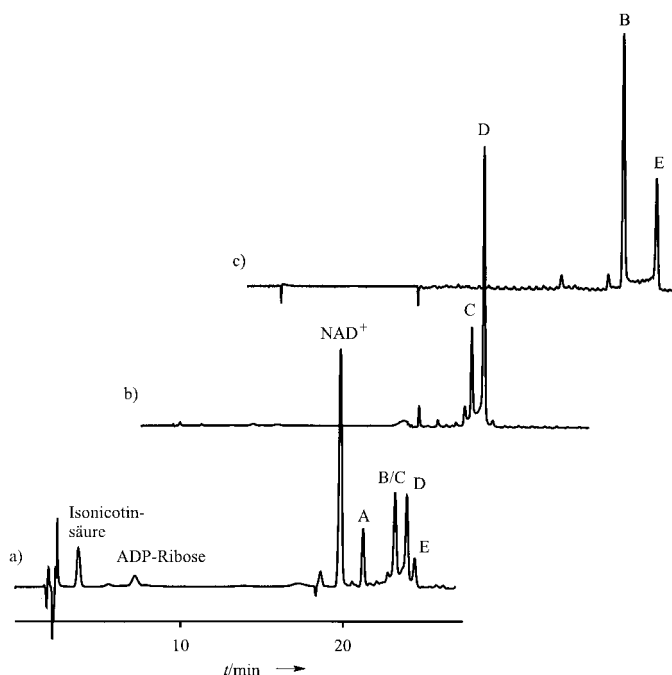
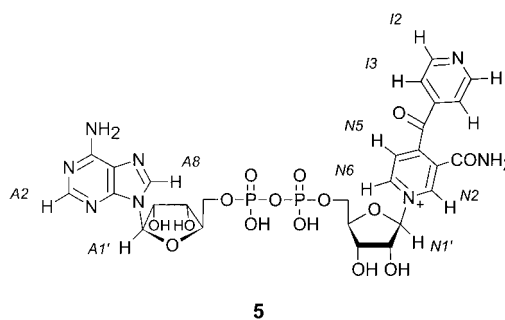


Abbildung 1. a) HPLC-Analyse eines Reaktionsansatzes von 100 µM Isoniazid, 70 µM NAD⁺, 2 µM KatG und 0.2 µM MnCl₂ bei pH 7.5 (100 mM Na₂HPO₄) und 25 °C.^[11] b) Re-Injektion von D. c) Re-Injektion von E.

geben die für Dihydropyridin-Derivate charakteristischen UV-Spektren ($\lambda_{\text{max}} = 330$ (B), 319 (C), 333 (D), 320 nm (E)).^[11] Bei B–E handelt es sich also um **2** und/oder entsprechende Isomere. Durch Isolierung von B–E konnte gezeigt werden, daß A ($M = 768.1$ Da) in einer Folgereaktion spontan aus B–E entsteht. Diese Umsetzung kann durch Peroxidase katalysiert werden. Die Produkte B und E sowie C und D stehen jeweils in einem dynamischen Gleichgewicht, d. h., bei der HPLC-Analyse einer isolierten einzelnen Komponente werden wieder zwei Peaks erhalten (Abbildung 1b und c). Verfolgen der Absorption bei 330 nm sofort nach der Isolierung von E durch HPLC ergab, daß es sich bei der Einstellung des Gleichgewichts zwischen B und E um einen Prozeß erster Ordnung mit einer Geschwindigkeitskonstanten von 0.3 min^{-1} handelt. Das Produkt B/E ist in In-vitro-Assays mit 2-*trans*-Octenoyl-CoA als Substrat ein kompetitiver Inhibitor von InhA ($K_i = 100 \pm 50 \text{ nM}$), während die Produkte A und C/D InhA nicht signifikant inhibieren.^[12] Die im Vergleich zu B/E und C/D höhere Stabilität von A ermöglichte dessen NMR-spektroskopische Charakterisierung. Die aus ¹H-TOCSY- und ROESY-NMR-Spektren erhaltenen Daten sind in Einklang damit, daß es sich bei A um die Verbindung **5** handelt, wobei **5** unter diesen Bedin-



gungen als Gemisch aus zwei sich in einem dynamischen Gleichgewicht befindlichen Verbindungen vorliegt (Abbildung 2). Unter Berücksichtigung der erhaltenen MS-, UV- und NMR-Daten sowie der Ergebnisse der enzymatischen

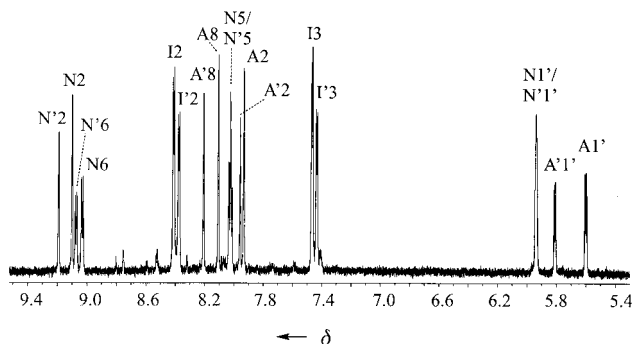
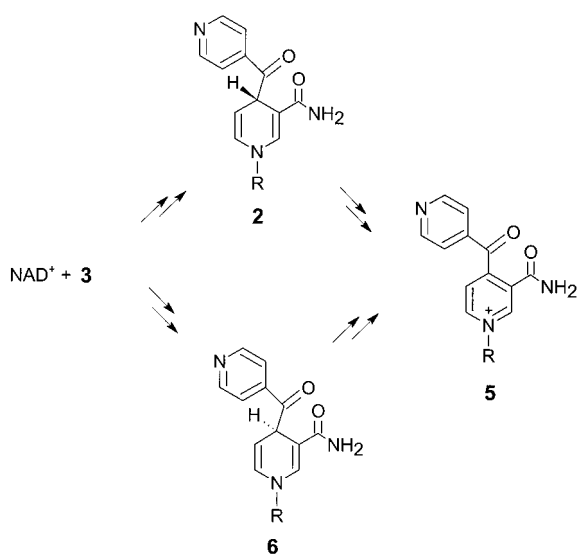


Abbildung 2. Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von A (=5, ca. 1.5 mM; $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ (9/1), pH 5.5, 25 °C, 600 MHz). Die Peaks sind entsprechend den Beschriftungen in der Formel von **5** gekennzeichnet. Der langsame chemische Austausch der im Gleichgewicht stehenden Verbindungen konnte durch Kreuz-Peaks im zugehörigen ROESY-NMR-Spektrum nachgewiesen werden.

Assays und der publizierten Kristallstruktur des InhA-Inhibitor-Komplexes ordnen wir dem Produkt B/E die Struktur **2**, C/D die Struktur **6** und A die Struktur **5** zu (Schema 2). Der Angriff von **3** am C-4-Atom von NAD^+ in Lösung ist demnach bezüglich der *Re*- oder der *Si*-Seite des Nicotin-



Schema 2. R = ADP-Ribose.

amids unspezifisch. Durch Oxidation kann aus **2** und **6** jeweils **5** gebildet werden. Für die beobachteten dynamischen Gleichgewichte kommen unserer Meinung nach zwei Erklärungen in Frage: Zum einen erscheint eine gehinderte Rotation um die Bindung zwischen der Isonicotinoylgruppe und dem C-4-Atom des Nicotinamids möglich. Die Aufspaltung der ^1H -NMR-Signale der Adenosin-Protonen der im chemischen Austausch stehenden Verbindungen **5** deuten weiterhin auf eine Stapelung zwischen dem Purinrest und dem

Isonicotinoyl-Nicotinamid-Addukt hin, welche die Rotation der Isonicotinoylgruppe beeinflussen könnte. Eine alternative Erklärung wäre, daß **2**, **5** und **6** jeweils im Gleichgewicht mit ihrem Hydrat stehen. Die Gleichgewichtskonstante der Hydratbildung beträgt für Pyridin-4-aldehyd $K_{\text{Hydrat}} = 2$ und die Geschwindigkeitskonstante für die Einstellung des Gleichgewichts bei pH 7.2 und 0 °C 2.5 min^{-1} .^[13] Bei Inkubation von B/E in H_2^{18}O wird ein ^{18}O -Atom in B/E eingebaut, wie durch MALDI-MS-Analyse nachgewiesen wurde.

Um das postulierte Reaktionsschema weiter zu überprüfen, wurden die Produkte der Reaktion von Isoniazid mit ($4\text{-}^2\text{H}$)- NAD^+ untersucht.^[14] Da bei den Produkten B–E nach 24-stündiger Inkubation bei pH 7 und Raumtemperatur kein Austausch des Deuteriums durch MALDI-MS festgestellt werden konnte, kann eine Epimerisierung an C-4 als Ursache für das Gleichgewicht zwischen B und E sowie zwischen C und D ausgeschlossen werden. Wie nach Schema 2 zu erwarten, wird bei der Umsetzung von B/E und C/D zu A das Deuteriumatom an C-4 verloren. Auch eine Epimerisierung zwischen α - und β -NAD-Addukten als Erklärung für die beobachteten Gleichgewichte kann ausgeschlossen werden, da ausgehend von $\alpha\text{-NAD}^+$ oder $\beta\text{-NAD}^+$ Hauptprodukte mit identischer Masse (770.1 Da), aber unterschiedlichen HPLC-Retentionszeiten erhalten wurden.

Die hier vorgestellten Daten stützen klar den vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus, auch wenn für ein detailliertes Verständnis der beobachteten dynamischen Gleichgewichte weitere Experimente erforderlich sind.

Die Gesamtausbeute für die NAD-Addukte A–E bezogen auf den Umsatz von Isoniazid unter den in Abbildung 1 gezeigten Bedingungen (mikromolare Konzentrationen an Isoniazid und NAD^+) beträgt ca. 50 %. Die effiziente Bildung der Isonicotinoyl-NAD-Addukte in Abwesenheit von InhA ist nach unserer Meinung für das Verständnis der Wirkungsweise von Isoniazid von großer Bedeutung. Da die Konzentration an NAD^+ in *M. tuberculosis* auch im mikromolaren Bereich liegt,^[15] postulieren wir, daß **2** im Bakterium über NAD^+ und außerhalb des aktiven Zentrums von InhA gebildet wird und daß die intrazelluläre Bildung des Inhibitors somit auf die schnelle Addition von Acylradikalen an elektronenarme Heterocyklen zurückzuführen ist. Berücksichtigt man weiterhin die geringe Bindungsaffinität von InhA für NAD^+ ($K_1 = 4 \text{ mM}$) und die damit verbundene geringe Konzentration an InhA-gebundenem NAD^+ ,^[5] erscheint die ebenfalls mögliche Addition von **3** an NAD^+ im aktiven Zentrum von InhA äußerst unwahrscheinlich. Die Katalase-Peroxidase KatG spielt ebenfalls keine aktive Rolle bei der Addition von **3** an NAD^+ , denn sowohl die Ausbeuten an Isonicotinoyl-NAD-Addukten als auch die Produktzusammensetzungen sind bei den Oxidationen von Isoniazid mit Mn^{3+} oder KatG gleich. Entscheidend für die Wirkungsweise von Isoniazid ist demnach die effiziente Bildung der Isonicotinoyl-NAD-Addukte im Sinne einer Minisci-Reaktion und das inhibitorische Potential von **2** (=B/E), dessen K_1 -Wert mit 100 nM (siehe oben) um einen Faktor von ca. 100 unter dem K_M -Wert von InhA für NADH liegt.^[5]

Anhand des vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus lassen sich auch die Befunde, daß einige Isoniazid-resistente Mycobakterien durch Defekte in NADH-Dehydrogenasen

ein im Vergleich zum Wildtyp verringertes Verhältnis von NAD⁺/NADH aufweisen und daß die Überexpression von NAD⁺-bindenden Proteinen zu einer erhöhten Isoniazid-Resistenz führen kann, neu interpretieren.^[16] Eine niedrigere intrazelluläre Konzentration an freiem NAD⁺ sollte dem hier vorgestellten Mechanismus zufolge direkt zu einer verminderten Bildung des Inhibitors führen.

Die hier vorgestellte spontane Bildung der bioaktiven Form von Isoniazid vereinfacht die bisherigen Vorschläge zur Wirkungsweise des Medikaments beträchtlich und sollte darüber hinaus dazu beitragen, das Auftreten von Isoniazid-resistenten Mycobakterien auf molekularer Ebene zu verstehen.

Eingegangen am 16. März 1999 [Z13168]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2588–2590

Stichwörter: Bioorganische Chemie • Cofaktoren • Enzym-inhibitoren • Enzymkatalyse

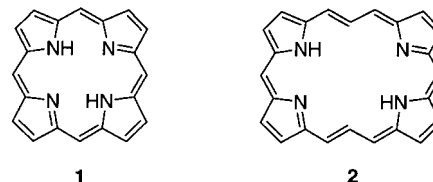
- [1] B. R. Bloom, C. J. L. Murray, *Science* **1992**, 257, 1055–1064.
- [2] a) Y. Zhang, B. Heym, B. Allen, D. Young, S. Cole, *Nature* **1992**, 258, 591–593; b) K. Johnsson, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7425–7426.
- [3] F. G. Winder, P. B. Collins, *J. Gen. Microbiol.* **1970**, 63, 41–48.
- [4] a) A. Banerjee, E. Dubnau, A. Quemard, V. Balasubramanian, K. Sun Um, T. Wilson, D. Collins, G. de Lisle, W. R. Jacobs, Jr., *Science* **1994**, 263, 227–230; b) K. Mdluli, R. A. Slayedn, Y. Zhu, S. Ramaswamy, X. Pan, D. Mead, D. D. Crane, J. M. Musser, C. E. Barry III, *Science* **1998**, 280, 1607–1610.
- [5] A. Quemard, J. C. Sacchettini, A. Dessen, C. Vilcheze, R. Bittman, W. R. Jacobs Jr., J. S. Blanchard, *Biochemistry* **1995**, 34, 8235–8241.
- [6] K. Johnsson, D. S. King, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 5009–5010.
- [7] D. A. Rozwarski, G. A. Grant, D. H. R. Barton, W. R. Jacobs, Jr., J. C. Sacchettini, *Science* **1998**, 279, 98–102.
- [8] F. Minisci, E. Vismara, F. Fontana, *Heterocycles* **1989**, 28, 489–519.
- [9] Rekombinantes InhA wurde über einen N-terminalen His-tag gereinigt.^[10] Für die Inkubationsexperimente wurde InhA (5.4 µM) mit Meerrettich-Peroxidase (44 µM), Isoniazid (250 µM), MnCl₂ (7.5 µM) und entweder NAD⁺ oder NADH (47 µM) bei pH 7.5 (50 mM Na₂HPO₄) und 25 °C inkubiert. Die InhA-Aktivität wurde mit Hilfe eines NADH-Assays verfolgt.^[6] Nach Abfall der Aktivität unter 10 % des Wertes bei t₀ wurde die Probe 12 h bei 4 °C in einem Mikrodialyse-System (GibcoBRL; Cut-off der Dialysemembran 12–14 kDa) gegen 100 mM Triethylammoniumacetat (pH 7) dialysiert. MALDI-Flugzeit(ToF)-Spektren wurden mit einem RP-Biospectrometry-Voyager-DE-Gerät aufgenommen; als Matrix dienten Sinapinsäure, 2,5-Dihydroxybenzoesäure und 2-Amino-5-nitropyridin.
- [10] M. Wilming, Diplomarbeit, Universität Bochum, **1998**.
- [11] Die HPLC-Analysen wurden mit einer Merck-LiChroCART-250-4-Purospher-RP-18e-Säule (5 µm) und einem NH₄OAc(75 mM)/Acetonitril-Gradienten durchgeführt. Die UV-Spektren der Peaks wurden mit einem Dioden-Array-Detektor (Kontron 440) erhalten.
- [12] Der K_f-Wert von B/E wurde mit 2-*trans*-Octenoyl-CoA und NADH bei pH 7.5 (100 mM Na₂HPO₄) und 25 °C bestimmt. Bei jeweils festen Konzentrationen von NADH und 2-*trans*-Octenoyl-CoA wurde die Konzentration von B/E variiert.
- [13] Y. Pocker, J. E. Meany, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 631–636.
- [14] (4-²H)-NAD⁺ wurde nach der Vorschrift von Charlton et al. synthetisiert: P. A. Charlton, D. W. Young, B. Birdsall, J. Feeny, G. C. K. Roberts, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 1349–1353.
- [15] K. P. Gopinathan, M. Sirsi, T. Ramakrishnan, *Biochem. J.* **1963**, 87, 444–448.
- [16] a) L. Miesel, T. R. Weisbrod, J. A. Marcinkiewicz, R. Bittman, W. R. Jacobs, Jr., *J. Bacteriol.* **1998**, 180, 2459–2467; b) P. Chen, W. R. Bishai, *Infect. Immun.* **1998**, 66, 5099–5106.

Ein bis-vinyloges Corrol: das erste expandierte Corrol**

Roberto Paolesse,* Richard G. Khoury, Fabio Della Sala, Corrado Di Natale, Francesco Sagone und Kevin M. Smith*

Tristano Boschi in memoriam

Das in der Natur weitverbreitete Porphyrinsystem **1** ist für den Ablauf biologischer Prozesse von entscheidender Bedeutung.^[1] Die Vielfalt seiner Eigenschaften hat das Interesse an Porphyrinanaloga, wie kontrahierten, expandierten oder isomeren Porphyrinen, geweckt.^[2] Das ursprüngliche Ziel der Untersuchungen von Analoga war die Erforschung der Struktur-Aromatizitäts-Beziehungen.^[3] Dabei ergab sich, daß kontrahierte, expandierte und isomere Porphyrine oft aus den entsprechenden Porphyrinen nicht ableitbare Eigenschaften aufweisen.^[2, 3] Ein typisches Beispiel eines expandierten Porphyrins ist das bis-vinyloge Porphyrin **2**. Franck et al.^[4] untersuchten an solchen Makrocyclen die Aromatizität expandierter Annulene. Auch als Photosensibilisatoren bei der photodynamischen Therapie wurden diese Makrocyclen genutzt.^[4–6]



Wir interessieren uns seit einiger Zeit^[7] für die Chemie von Corrol **3**, dem prototypischen Norporphyrin, bei dem eine der *meso*-Kohlenstoffbrücken fehlt. Die Verbindung hat kürzlich aufgrund einiger unerwarteter Eigenschaften neuerliches Interesse erfahren.^[8] Die Beziehung zwischen Porphyrin und Corrol veranlaßte uns zu versuchen, ein **2** ähnliches bis-vinyloges System vom Typ **4** herzustellen. Unser Zielmolekül **5** würde nach der von Franck^[6, 9] vorgeschlagenen Nomenklatur als [22]Porphyrin(3.1.3.0) bezeichnet werden. Seine Synthese und Charakterisierung wird im folgenden beschrieben.

[*] Dr. R. Paolesse, F. Sagone
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche
Università di Roma „Tor Vergata“
I-00173 Roma (Italien)
Fax: (+39) 6-7259-4328
E-mail: Roberto.Paolesse@UniRoma2.it
Prof. Dr. K. M. Smith, Dr. R. G. Khoury
Department of Chemistry
University of California, Davis
Davis, CA 95616 (USA)
Fax: (+1) 530-754-2100
E-mail: kmsmith@ucdavis.edu
Prof. Dr. F. Della Sala, Prof. Dr. C. Di Natale
Dipartimento di Ingegneria Elettronica, INFN
Università di Roma „Tor Vergata“
I-00173 Roma (Italien)

[**] Diese Arbeit wurde durch die National Science Foundation (Grant CHE-96-23117), die National Institutes of Health (Grant HL-22252) und CNR MADESS II, Italien (Projekt 97.01380.PF48) gefördert.